2008.10.29
15 回抄読会資料
担当:三好

Clinical course and outcome of a nosocomical outbreak of hepatitis C in a urology ward
泌尿器科病棟における C 型肝炎の院内アウトブレイクの臨床経過と転帰
Journal of Hospital Infection(2007) IF:2.470

評価:C
Summary が章立てしていない、適切な文献が引用されていないことも含めて、書き方がしっかりしていない。内容については、調査は詳しくされているが、少人数のアウトブレイクの報告となっており、臨床経過がメインとなっているが考察がしっかりと行われていないなど課題が多い。また HCV のアウトブレイクは国によって遺伝子型も異なるし、慢性化率等も異なる。従って、ブルガリアでの HCV 感染の背景や現状、疫学調査についてなども触れて欲しいところである。一般的に C 型肝炎のアウトブレイクは透析患者やペインクリニックでの癌患者での報告が多く、この文献で報告された泌尿器科病棟はあまりアウトブレイクが多い集団としては知られていない。アウトブレイクが起こった集団の種類によって寛解する割合は異なるであろうし、そういった点についても考察を行って欲しかった。ブルガリアでの感染管理の方法は分からないが、日本やアメリカではこの文献に書かれているような感染管理方法はエビデンスがあるとはいわれていない。

Summary

本論文では、ブルガリアのスタラ・ザゴラの病院で泌尿器科の男性患者 6 例が C 型肝炎ウイルス(HCV)に感染した院内アウトブレイクの臨床経過と転帰についての前向き調査を報告する。これらの患者は泌尿器科病棟の入院暦があり、全員が入院中に静注による治療を受けていた。約 3 週間後に 6 例全員が急性肝炎で感染症病棟に収容されたが、これは HCVgenotype1b に起因することが判明した。入院第 1 週目に PCR により確定診断がなされた。感染患者を診断後 30 ヶ月間追跡し、患者に接触した可能性がある 54 名を曝露後 6 ヶ月間追跡した。4 例の患者は完全に回復したが、1 例は慢性 HCV 感染症を発症し、1 例は死亡した。死亡例には B 型肝炎ウイルスの同時感染による肝硬変がすでに存在していた。本調査で、同時期に同じ病棟に入院していた慢性 C 型肝炎患者が初発症例であることが確認された。最も可能性が高い伝播経路は、共用の注射器によるヘパリンフラッシュであった。一般的には、急性 HCV 感染は多くの場合慢性化すると考えられているが、本調査の 30 ヶ月間で観察された慢性化例は 1 例のみであった。

→Summary 部分が章立てされていない。アウトブレイクの調査報告でも、章立てされている文献も多く、その方が分かりやすく感じた。

Introduction

通常、軽度で無症候性の急性 C 型肝炎は 90%近い高率で慢性化する。しかしながら、約 20 から 30%の市中感染型の症状のある急性 C 型肝炎感染者は自発的に C 型肝炎ウイルスを駆除できる。→ウイルスが排除され、慢性化せずに治癒する。

→慢性化率について引用されていた 2 つの文献は、1997 年のものと 1999 年のもので古い。1997 年の Hoofnagle の文献では、慢性化する割合は 85%とされており、1999 年の Alberti の文献はオンラインでアブストラクトしか入手できなかったが、アブストラクトからは 90%の慢性化率は読み取れなかった。また、より最近の 2005 年の文献(Leone N and Rizzetto M, Natural history of hepatitis C virus infection: from chronic hepatitis to cirrhosis, to hepatocellular carcinolma, 2005)では、ウェブサイトから入手できる肝炎についての情報と同様に、60-80%の慢性化率であると書かれている。

→C 型肝炎の治癒の割合についても、引用している文献は 1992 年の文献で、より新しい文献では 10-20%となっている(Amarapurkar, Natural history of hepatitis C virus infection, 2000, Leone N and Rizzetto M, 2005)。

HCV のクリアランスや持続性を定義するメカニズムはまだ解明されていない。HCV の genotype や抗ウイルス細胞性免疫反応力の差のようなウイルスと宿主の両方の因子が疾患の進行に影響する。ウイルス特異的ヘルパーT 細胞と細胞傷害性 T リンパ球反応は急性 HCV 血症 のコントロールとウイルスのクリアランスに関連している。

早期の HCV 感染の間の広範囲にわたる免疫反応は、より症状を示す急性 C 型肝炎感染の臨床像とそれに続くウイルスクリアランスの関係で説明されると考えられている。疾患の臨床経過は診断を困難にしている。

The Bulgarian ministry of Health はブルガリアでの急性 C 型肝炎の負担を最近 9 年間で 100,000 名あたり 0.5-1.5 ケースであると見積もった(1997-2005、パーソナルコミュニケーション)が、公の見積もりは正確でないかもしれない。すべての C 型肝炎感染者のグループの優性 genotype は 1b(72%)で、血友病患者の 67%から血液透析患者の 80%の間で変化する。

ブルガリアでの血液の供給は有志で無報酬だ。潜在的な献血者のスクリーニングは HBV、HCV、HIV の検査を含む;ブルガリアの献血者は 1992 年以降 HCV をスクリーンされている。見積もられた献血者の HCV 有病率は 0.9%だ。

→目的が Introduction に明示されていない。

Methodology

Patients

研究はブルガリアのスタラ・ザゴラの市中病院である、22 病棟、620 ベッドの総合病院で行われた。泌尿器科病棟は 5 部屋、20 ベッドであった。

2004 年 2 月 7 から 12 日に、6 名のウイルス肝炎によると思われる黄疸のある急性疾患患者がブ

ルガリアのスタラ・ザゴラの市中病院の感染症病棟（IDU）に入院した。全員男性で年齢は 49 から 81 歳（平均 65.8±12.5 歳）で同じ病院の泌尿器科病棟に最近入院していた。

疫学的介入が全てのケースの数、感染源、感染ルートの特定のために行われた。

インタビューによって振り返られ、5 名の感染患者の家族や性パートナー、15 名の医療スタッフ、34 名の患者の接触者で 6 名の患者と同じ時に泌尿器科病棟にいた者を含む全部で 54 名の接触者が特定された。

患者と接触者は全員疫学者により以前の輸血、外科手術、侵襲性の診断手順、血液透析、性交渉を含む特定の HCV 感染のリスクファクターを同定するためのインタビューをされた。

全員が臨床検査を受けた。右上腹部圧痛または痛み、食欲の喪失、センチメートル単位で測られた肝腫大の幅が記録された。

急性 HCV 感染の診断はアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の上昇、抗 HCV 抗体を決定する証明されたセロコンバージョンと/またはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による HCV RNA の定義を含んだ。

肝機能テスト［総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、ALT、γグルタミントランスペプチターゼ（GGT）、アルカリフォスファターゼ（AP）］は患者と接触者に行われた。これらは 6 名の患者に対してIDUに入院後何度か繰り返され、接触者に対しては一度行われた。同じ実験調査は全ての患者と接触者に調査中、1、3、6、12 ヵ月後、そして 6 名の患者にのみプレゼンテーションの 30 ヵ月後に行われた。

6 名の患者は抗HCV抗体と HCV RNA*[1]の両方を入院最初の 1 週間、病院からの退院時、疾患の発症から 1、6、12、30 ヵ月後に検査された。接触者は HCV 抗体のみをコンタクト開始から 6 ヶ月間毎月検査された。彼らは PCR*[2]による HCV RNA 金銭的制約のために調査されなかった。*[3]

→抗体の陽性化は1-30ヵ月後で、確定診断は HCV RNA 定性検査で行われる。急性期に HCV 抗体が検出されるのは 50%以下。3ヶ月で 90%、6ヶ月で 100%といわれている。

すべての患者と接触者に対して、市販の酵素免疫測定法*[4]はC型肝炎ウイルスのマーカー（Monolisa Anti-HCV Plus version 2, Bio-Rad, France）と、血清B型肝炎表面抗原*[5]（Monolisa Ag HBsPlus, Bio-Rad）の検出のために使用された。

Molecular biological assays

血清中の HCV RNA の存在は標準化された定性 PCR 分析（Roche Molecular Systems, Inc.,Branchburg, NJ, USA）を用いて定義された。

6 名の患者それぞれから得られた HCV の genotype は、製品の取扱説明書に従って ProDect HCV Genotyping assay 123（Bionalisi Centro SUD, Italy）を使って行われた。逆転写の（RT）-PCR ははじめに HCV 遺伝子の高度に保存された領域を増幅するのに使用された。

増幅されたものは HCV サブタイプの 1a、1b、2a、2b と 3a に特異的な一本鎖の DNA プローブをもつ雑種を生じ、ストレプトアビジン-ビルチンでコートされた*6マイクロタイター*7のウェルの壁に適用された。DNA 酵素免疫測定法（ProDect GEN.E.I.A.-BCSPDG001 Bionalisi Centro SUD）が雑種の DNA を検出するのに使用された；吸光度は光度計で測定された。すべての分子レベルの検査はソフィアにある感染性と寄生性の疾患の国家センターのウイルス部門の参照試験所で行われた。

→HCV のサブタイプには、6 種類（1a、1b、2a、2b、3a、3b）ある。しかし、3b はタイでは多く見られるが、その他の国ではほとんど見られないらしい。また、1a はアメリカに多く、その他の国ではまれらしい。理由は不明だが、そのあたりから 3b のみを省いたのか？

Results

6 名の感染患者は 1 か月程度前から入院しており、1 月 4 から 18 日の間に同じ病院の泌尿器科病棟に入院していた。 5 名は入院中に侵襲的な処置を行われており、4 名は外科手術を受け、1 名は膀胱から結石を摘出された。

6 名は全員末梢の静脈内カテーテルがあった。入院中、34 名の患者が同じ病棟に入院していた。12 名は経口投薬のみを受けていた。

患者 A、B、C と D は同じ病室（no.3）で看護されており、患者EとFは no.4 の部屋であった。

アウトブレイクの原因は 6 名と同じ時に no.2 の部屋に入院していた女性患者であると考えられた。彼女は 1 月 11 日から 18 日まで閉塞性尿路障害からきた水腎症の治療を受けていた。

推測上の初発症例は潜在的な血液ドナーとしてスクリーンされ、2 年前に HCV キャリアと分かり、10 年前の輸血で HCV に感染したと思われた。彼女の肝機能検査（AST と ALT）は正常レベルであった。 病院スタッフは入院時に彼女の HCV の状態に気づいていた。彼女にもまた、抹消静脈内カニューラがあった。

推測上の初発症例の入院日から、6 名の急性 HCV 感染の潜伏期間は 14 から 32 日で、平均 22.4 プラスマイナス 2.6 日であった。

はじめの臨床所見は全身の倦怠感と右上腹部の不快感であった。4 名の患者は最大で 37.5 度の程度の発熱があり、5 番目の患者は最高 39 度に熱が上がった。肝機能検査は高値を示した：直接割合の prevalence で総ビリルビン（49.6-574 μ mol/L）、ALT（832-2871 U/L）、AST（476-1715U/L）。5 名の患者は AP（380-1032U/L）の上昇を伴う閉塞性黄疸があった。

6 名は臨床検査で 1 から 4.5 センチ（2.7±0.9）の肝腫が肋骨縁にみられた。4 名は 0.5 から 2 センチ（0.8±0.4）の脾腫もみられた。

臨床経過は、1 名は経度、2 名は中等度、残りの 3 名は重症であった。6 名は 15 から 37 日（21.8±5.4 日）感染病棟に入院した。

急性 HCV 感染患者 C は 80 歳の男性で、長期間にわたるインスリン依存性糖尿病と高血圧を患っており、今まで特定されなかった慢性 HBV 感染があった。彼は、以前は HBV キャリアである

ことが分かっていなかった;彼の HBV の状態のみ IDU への入院時の調査の間に明白になった。彼は広汎性の不快感と吐き気を訴えたが、熱はなかった。彼は肝臓の圧痛を伴う軽度の黄疸と、肋骨縁の下の 2－2.2cm の肝臓の肥大があった。黄疸がひどくなってから 10 日後に彼は 39.9℃の熱が出た。彼は嘔吐し始め、口の中の苦い味、かゆみを訴え、まず異常に低下し、それから全体の胆汁欠乏が現れた。彼は下肢の浮腫と腹水があった。3 週間目の終わりまでに、彼は出血性発疹と両側性の肺炎になった。彼は血管内凝固症候群と多臓器不全の出現の後に死亡した。死亡前の検査で彼はHCV急性感染に加えて慢性の肝硬変があった。

彼の疾患の開始時の血清学の検査で HBsAg(表面抗原)、HBeAg(コア抗原)、そして抗 HB 中心抗体の存在が明らかになった。HCV RNA もまた PCR により検出された。3 週目までに HCV RNA はまだ存在し、抗 HCV 抗体は今検出されたが HBsAg はもう酵素免疫吸着法で検出されなかった。

抗 HCV 抗体は曝露したと思われる時から 40 から 44 日後の間に 6 名の患者のうち 2 名で検出できた。他の 4 名は入院の終わり頃に抗体は陽性になった。すべての生きている患者は観察期間全体で抗 HCV はずっと陽性であった。

HCV RNA は疾患の初めの黄疸のある期間に 6 名全員で PCR により検出された。4 名は続いて PCR がネガティブになった;3 名(A、B、F)は退院までに、4 番目の患者(E)は退院 1 か月前に。生きている 5 番目の患者(D)は調査期間全体を通して PCR による HCV RNA はポジティブを維持した(図 1)。6 名は全員 HCV の genotype1b に感染していた。女性の推測上の初発症例を除いては他に HCV 感染の接触はなかった。

推測上の初発症例は抗 HCV 抗体をもち、PCR により HCV RNA も確かめられた;genotype は 1b であった。

→感染率が結果の中で割合として明示されていない。

Discussion

抗 HCV 抗体の検出は最も簡単な HCV に感染した患者を同定する方法だ;しかしながら、血清検査のみでは最近の感染か過去の感染かは識別できない。6 名中 2 名の HCV 感染患者は IDU に入院後第一週の間にセロコンバートされた。セロコンバージョン(抗原が陰性になり、抗体が陽性になること)の期間は曝露後 40-44 日であり、例えば全体の潜伏期間、黄疸が出る前の期間と入院後の時間だ。これらの結果は Mattson らの、疾患発症の 1 週間後までに 27%の患者が抗 HCV リアクティブであったものと一致していた。我々のデータは HCV セロコンバージョンの平均時間はウイルス血症の発症後 6 週間であると報告した Netski らと一致した。

泌尿器科病棟への入院暦のみが 6 名の患者の急性肝炎の発症と明らかに関連していた。静脈内治療のタイミングーいつ他の慢性 HCV 感染患者がいたかーと続いて起こる急性 C 型肝炎の発症は 2 つのイベントの関係を強く示唆した。

我々の結果はウイルスクリアランスが比較的短い潜伏期間と急性疾患の臨床所見での黄疸の関連を示した先行研究と一致した。しかしながら、6 名の患者のうち 4 名は一過性のウイルス血症で自発的に彼らのウイルス感染をクリアにした;他の研究では 10-15%と低値を引用していた。

→アウトブレイクの集団のもともとの免疫力によってもクリアランスや抗体の形成に影響があると考えられる。そのあたりの考察が不足している。

多くの研究は特効のある治療をせずに急性 HCV 感染からの完全な回復は臨床所見から 12 週間以内に起こることを示した。他では 6-12 ヵ月後とより遅れたクリアランスを報告した。

明らかに完全に回復した 4 名の患者は疾患の発症後 30 ヶ月まで研究された。彼らは曝露から 7 から 12 週間（8.8±1.4）で HCV が陰性になった。

死亡した患者は高齢の高血圧を伴う糖尿病患者で、すでに慢性 HBV 感染によると思われる肝硬変になっていた。彼の疾患の経過は長期にわたり、より重症であった。彼の HCV レプリケーションは早かったと考えられ、B 型肝炎表面抗原はもはや抗 HCV が検出されてからは検出されなかった。急性または慢性感染患者の HCV による HBV レプリケーションの抑制はよく知られた現象だ。いくつかの研究が B 型と C 型肝炎両方に感染した入院患者は、HBsAg の発現を HCV が弱めるように見える。

→重複感染すると、一方のウイルスが他方のウイルスの増殖を抑制するウイルス干渉が報告されている。

HBsAg のキャリアの急性 HCV 重複感染は劇症/亜劇症肝炎（亜急性型劇症肝炎？）の主要な過程だろう。

患者 D、81 歳男性は慢性 HCV 疾患になった。彼の疾患の過程は軽度で、総ビリルビンの上昇も低かった。残りの 4 名の完全に回復した患者のうち、2 名は重症で、1 名は疾患の経過がより中等度であった。

疫学的な調査はこれを、原因患者の HCVgenotype1b によって汚染されたヘパリン溶液を共有したことによる伝染での院内アウトブレイクと示唆した。全ての患者のカニューラは複数使用のヘパリンの入った生理食塩水からのヘパリンで洗浄されていた。他の有意な曝露は同定されなかった。これは、間違いなく、良くない感染コントロールの実践と安全な静脈内カニューラの使用の確立されたプロトコールに従っていなかったことによる。

同じような、事故による HCV キャリアだと認識されていなかった患者の血液による複数回使用のヘパリン溶液の汚染は Bruguera らによっても C 型肝炎の院内アウトブレイクの原因として報告された。何人かの著者によって、汚染された複数回使用のバイアルは院内 HCV 感染の様式として報告された。

スタラ・ザゴラの市中病院は、すべてのブルガリアの病院のように静脈内挿管をとりまく良い実践についての感染コントロールの方針を持っていた。また、病院の疫学者と病院の感染コントロール委員会もあった。抹消の静脈内カニューラのケアは 48 時間おきにカニューラを変えることと毎日無菌のバンドエードで再度覆うことが含まれていた。静注薬物の投与後カニューラは新しく用意され

て冷蔵庫で保管されたヘパリンの入った生理食塩水でフラッシュされた。個人に使い捨てのシリンジは必須であった。

この院内アウトブレイクの後、この病院は静脈内カニューラの洗浄には事前に満たされたヘパリン生食を使い捨てのシリンジで使用することを負わされた。加えて、感染管理についての臨床管理についてより大きなプロミネンスが与えられた。

→どうして感染コントロールの方針があったにもかかわらずこのようなアウトブレイクが起こったのかについての考察がもう少し欲しい。他にも同じようなケースの報告があるのであれば今後どのような対策が必要であるのかまで言及して欲しい。

→研究の限界や課題について述べられていない。また、研究の長所についても触れていないが、調査報告では述べられないものなのか？

→48 時間おきにカニューラを変えることは適切なのか。また、バンドエードで覆うといったこともエビデンスとして聞いたことがない。

＊1

＜HCV RNA＞

血液中の HCV 遺伝子を検出するもので、C 型肝炎ウイルス（HCV）に感染しているかどうかの指標。HCV RNA 検査は感染後約1週間で陽性となる。陽性の場合は C 型肝炎、無症候性 HCV キャリアの可能性がある。

肝炎ネット

http://www.bkanen.net/inspection_15.html

＊2

＜PCR 法＞

HCV RNA の定量方法。HCV 感染細胞より抽出した total RNA を鋳型として、competitor DNA を内部標準とした RT-PCR 法により、HCV ゲノム中で比較的塩基配列が保存されている 5'非翻訳領域の cDNA を増幅し、さらに nested PCR を行った後、アガロースゲル伝導泳動にて内部標準の competitor DNA との比率から感染細胞中の HCV ゲノムの定量を行う。

RT-PCR 法による C 型肝炎ウイルス（HCV）ゲノムの定量に関する標準操作手順書より

http://www.brc.riken.jp/lab/dna/rvd/SOP/HCV/SOP-HCV-001J.html

＊3

＜一般的な HCV の検査＞

血液検査では、まず **HCV 抗体**の有無を検査する。

HCV 抗体陽性の人の中には、「現在ウイルスに感染している人」（C型肝炎ウイルス持続感染者

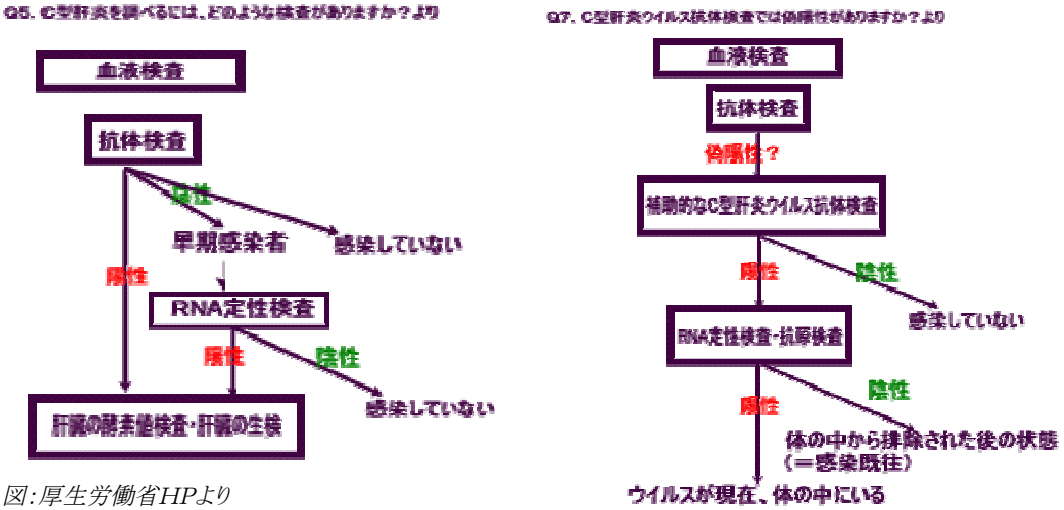
（C 型肝炎ウイルスキャリア））と「過去にC型肝炎ウイルスに感染したが治った人」（感染既往者）とがいる。

このため、C 型肝炎ウイルスキャリアと感染既往者とを適切に区別するために、**血液中の HCV 抗体の量（HCV 抗体価）**を測定することと、**C 型肝炎ウイルスのコア抗原**を検出すること、および核酸増幅検査（NAT）により**C 型肝炎ウイルスの遺伝子（HCV RNA）**を検出することの 3 つの検査法を組み合わせて判断する方法が一般的に採用されている。

厚生労働省HPより

（http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou09/02-02.html）

図



図：厚生労働省HPより

http://www.e-medinavi.com/kensa/koutai-kensa.htm

＊4

＜酵素免疫測定法（EIA法）＞

特異的な抗原抗体反応をする抗原または抗体に酵素を付着させ、酵素の活性を測定することによって抗原抗体反応の結合量を測定する方法。

検体（HCV 抗体）と抗 HCV 抗体との結合で生じる複合体に酵素標識抗体を結合させた後、基質を添加して発色させ、その吸光度で測定する。

病院検査情報サイトより

http://kensa.sfuji.com/2007/07/post_186.html

＊5

＜血清B型肝炎表面抗原＞

＝HBsAg

HCV-RNA（ウィルスそのもの）の測定法には、核酸増幅法（RT-PCR）を用いる方法とこれを用い

ない方法がある。RT-PCR を用いる方法には、さらにアンプリコア（amplicor）定性法とアンプリコアモニター（amplicor monitor）法があり、後者が定量法であり、Kcopies/ml の単位が用いられる。アンプリコアモニター法はアンプリコア定性法に比べて感度が劣るため、HCV 感染の有無はアンプリコア定性法でおこなう。もう一方の HCV-RNA 測定法である RT-PCR を用いない方法は分岐プローブ法（bDNA プローブ法：bDNA probe 法）と呼ばれ、定量法である。単位には Meq/ml が用いられる。いずれの測定法もウイルスの genotype により感度が異なり、genotype2a に対する感度は genotype1b に対する感度の約 1/10 である。

透析百科より

http://202.216.128.227/%E9%80%8F%E6%9E%90%E7%99%BE%E7%A7%91/18.08.htm

C 型肝炎の有無を調べる定性法と治癒結果を見る定量法

HCV の早期発見には、ウイルスが体内にいるかどうか（キャリア）を調べる必要があります。

HCV はフラビウイルスに属する RNA というウイルスです。この RNA（HCV RNA）を調べる「HCV RNA」検査により、C型肝炎の早期発見が可能になりました。

HCV RNA 検査は、HCV キャリアの選別だけでなく、インターフェロン治療効果の判定にも有用です。検査法は定性法と定量法の二種類があります。

定性法は、RT-PCR 法と、Amplicor 定性法があります。いずれも血中に微量の HCV RNA を百万倍に増幅して検出する方法で、最も HCV ウイルスの測定感度が高い検査法です。

定量法は CRT-PCR 法、Amplicor 定量法、分岐 DNA プローブ法などがあります。後者2検査法は、C 型肝炎の治療法の選択や、治療経過の観察に使用されています。

以前は、定量法検査は、定性法に比べて測定感度が低いとされていました。しかし、最近では改良が進み、測定感度が上がったと言われています。

社団法人日本健康倶楽部北九州支部HPより

http://www1.odn.ne.jp/nikken_kitakyu/02_nihon_kensa_hcv.htm

＊6

＜ストレプトアビジンコート＞

アビジン-ビオチン結合で、ビオチン化された、低分子や疎水性分子の結合（合成ペプチドなど）で、DNA ハイブリダイゼーション法にも適する。

コスモバイオ株式会社HPより

http://209.85.175.104/search?q=cache:kWcQ4Uc0N7cJ:www.cosmobio.co.jp/product/kiki/000224.asp+%E3%83%93%E3%82%AA%E3%83%81%E3%83%B3+%E3%82%B9%E3%83%88%E3%83%AC%E3%83%97%E3%83%88%E3%82%A2%E3%83%93%E3%82%B8%E3%83%B3+%E3%83%9E%E3%82%A4%E3%82%AF%E3%83%AD%E3%82%BF%E3%82%A4%E3%82%BF%E3%83%BC&hl=ja&ct=clnk&cd=1&gl=jp

2008.10.29
15 回抄読会資料
担当：三好

＊7

＜マイクロタイタープレート＞

多数のくぼみ（ウェル）のついた平板からなる実験・検査器具で、各ウェルを試験管あるいはシャーレとして利用する。

ウィキペディア（Wikipedia）より

http://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%9E%E3%82%A4%E3%82%AF%E3%83%AD%E3%83%97%E3%83%AC%E3%83%BC%E3%83%88